



Efeitos de uma sessão de treino de CrossFit em biomarcadores plasmáticos de lesão oxidativa

Dissertação apresentada com vista à obtenção do
2º ciclo de Atividade Física e Saúde, da Faculdade
de Desporto da Universidade do Porto ao abrigo de
decreto de lei n.º 74/2006 de 24 de março.

Orientador: Prof. Doutor José Magalhães

Coorientador: Prof. Doutor António Ascensão

Autor: Manoel Juarez Marinho Rios

Porto, 2018

Ficha de Catalogação

Rios, M. J. M. (2018). *Efeitos de uma sessão de treino de CrossFit em biomarcadores plasmáticos de lesão oxidativa*. Porto: M. Rios. Dissertação de Mestrado para a obtenção do grau de Mestre em Atividade Física e Saúde, apresentada à Faculdade de Desporto da Universidade do Porto.

Palavras-chave: CROSSFIT, CORRIDA, DANO DO DNA, STRESS OXIDATIVO

A minha mãe.

Agradecimento

A concretização desta dissertação só foi possível com a colaboração, orientação, apoio e incentivo de várias pessoas, a quem gostaria de apresentar a minha profunda gratidão. Deste modo, expresso os meus sinceros agradecimentos às seguintes pessoas:

Aos meus orientadores, Prof. Doutor José Magalhães e Prof. Doutor Antonio Ascensão por me terem aceito no Laboratório de Metabolismo e Exercício (LaMetEx), e por me possibilitarem a realização desta dissertação. Gostaria de agradecer também toda partilha de conhecimento, compreensão e disponibilidade que sempre demonstraram.

Ao Prof. Doutor Rui Garganta que muito colaborou neste projeto.

A toda equipa “PADRÃO” LaMetEx: Jorge Beleza, Jelena Stevanovic, David Rizo, Estela Alves, Pedro Coxito, Telma Bernardo e Kamonrat Nhusawi que incentivaram na melhoria da pesquisa e escrita, compartilhando sabedoria, alegria e conhecimento. Aspecto que fortalecem a união e desenvolvimento do nosso grupo/família.

Aos atletas que fizeram parte da amostra do estudo, que confiaram na pesquisa e dedicaram seu tempo no projeto.

À Tamires pela paciência, motivação, carinho, encorajamento, compreensão, enfim pela sua presença, pois sem ela nada disto seria possível.

Por último, à minha família pelos valores que me transmitiram e pelo apoio incondicional, seja perto ou longe. Em especial à minha mãe pela paciência, amor e por ser o maior incentivo em tudo na minha vida.

Índice geral

Índice de figuras.....	X
Índices de tabelas.....	XII
Resumo.....	XIV
Abstract.....	XVI
Lista de abreviaturas e símbolos.....	XVIII
1. Introdução	1
2. Revisão da literatura.....	5
2.1. CrossFit.....	5
2.2. Stress oxidativo	8
2.3. Dano do DNA	13
3. Objetivo.....	15
4. Material e métodos.....	16
4.1. Caracterização do estudo e conduta ética	16
4.2. Critérios de inclusão e exclusão e população estudada.....	16
4.3. Desenho experimental.....	17
4.3.1. Etapa 1 – Caracterização da amostra.....	17
4.3.2. Etapa 2 – Protocolo CrossFit	19
4.3.3. Etapa 3 – Protocolo passadeira	23
4.4. Marcadores de capacidade antioxidante e lesão oxidativa	23
4.5. Procedimentos estatísticos.....	25
5. Resultados.....	26
5.1. Caracterização dos sujeitos estudados	27
5.2. Parâmetros fisiológicos dos atletas do CrossFit durante e após WOD e protocolo de corrida	28
5.3. Capacidade antioxidante (FRAP)	29
5.4. Tióis totais	30
5.5. Danos do DNA.....	31
6. Discussão.....	32

7. Conclusões.....	39
8. Referências bibliográficas.....	40

Índice de figuras

Figura 1. Mecanismo esquemático da formação de ERO durante exercício. Adaptado de (Fortuño et al., 2005).....	4
Figura 2. Desenho experimental do estudo.....	15
Figura 3. Exercício remo no ergómetro.....	20
Figura 4. Exercício no ciclo ergómetro.....	20
Figura 5. Exercício “ <i>Randy</i> ”.....	21
Figura 6. Exercício <i>Deadlift</i>	21
Figura 7. Exercício Toes to bar.....	22
Figura 8. Exercício <i>Dumbbell thruster</i>	22
Figura 9. Exercício <i>Dumbbell walking lunges</i>	23
Figura 10. Capacidade antioxidante avaliada através do ensaio FRAP em atletas de CrossFit antes e após um WOD e um protocolo de corrida.....	29
Figura 11. Representação gráfica dos níveis de tióis totais em atletas de CrossFit antes e após um WOD e um protocolo de corrida.....	30
Figura 12. Danos do DNA avaliados através do ensaio Cometa em atletas de CrossFit antes e após um WOD e um protocolo de corrida.....	3

Índice de Tabelas

Tabela 1. Exemplo do WOD.....	5
Tabela 2. Caracterização dos sujeitos estudados.....	27
Tabela 3. Parâmetros fisiológicos dos atletas do CrossFit durante e após WOD e protocolo de corrida.....	28

Resumo

O CrossFit (CF) é um programa de condicionamento físico exigente que apresenta uma crescente popularidade e visa otimizar as capacidades físicas através de uma variedade de exercícios funcionais realizados a uma elevada intensidade. Apesar do crescente número de praticantes, são ainda escassos os estudos sobre os efeitos fisiológicos deste tipo de atividade. O presente estudo teve como objetivo analisar o impacto agudo de uma sessão de treino de CF - "Work of the Day" (WOD), comparando-a com um protocolo de corrida em tapete rolante, com a mesma duração e realizado à média do consumo de oxigénio (VO_2) daquele previamente obtido no WOD, em marcadores plasmáticos de capacidade antioxidante e lesão oxidativa. Foram avaliados dez indivíduos, com pelo menos três meses de experiência em treino de CF. O VO_2 e frequência cardíaca (FC) foram monitorizados durante o decorrer do WOD. Uma semana depois, os sujeitos realizaram uma corrida na passadeira rolante com a mesma duração e ao mesmo VO_2 médio obtidos no WOD. Foram colhidas amostras de sangue em repouso e imediatamente após os dois protocolos para avaliação das concentrações de lactato, capacidade antioxidante (FRAP), tióis totais e dano oxidativo do DNA. Quando comparados com os valores do repouso, após uma sessão de treino CF, verificou-se um aumento da capacidade antioxidante (FRAP, $p < 0,01$), dos níveis de tióis totais ($p < 0,05$) e do dano do DNA ($p < 0,01$). Ao analisar estes marcadores após o protocolo de corrida na passadeira, observou-se um aumento da capacidade antioxidante ($p < 0,05$) e um aumento dos danos ao DNA ($p < 0,05$) quando comparados com os valores do repouso. Adicionalmente, o dano de DNA foi menor no protocolo de corrida em comparação com o WOD ($p < 0,05$). Os resultados do presente estudo são algo surpreendentes pois demonstram que uma sessão de WOD induz uma condição acrescida de lesão oxidativa ao nível do DNA, apesar de também afetar positivamente a capacidade antioxidante dos praticantes de CF.

Palavras-chave: CROSSFIT, CORRIDA, DANO DO DNA, STRESS OXIDATIVO.

Abstract

CrossFit (CF) is a demanding fitness program with increasing popularity that aims to optimize physical abilities through a variety of functional exercises performed at high intensity. Despite the growing number of practitioners, scientific data on the physiological effects of this type of training are still scarce. The present study aimed to analyze the acute impact of a CF training session and compare it with a running protocol performed at the same duration and average oxygen consumption (VO_2) performed in the WOD on plasma markers of antioxidant capacity and oxidative damage. Ten individuals with at least three months of CF training experience were evaluated. VO_2 and heart rate were monitored during the training session. One week later, the subjects ran on the treadmill at the same duration and VO_2 obtained in the previous CF training session (WOD). Blood samples were collected at rest and immediately after the exercise protocols for evaluation of lactate levels, antioxidant capacity (FRAP), total thiols and DNA damage. When compared to the rest values, there was an increase in antioxidant capacity (FRAP, $p < 0.01$), in total thiol levels ($p < 0.05$) and oxidative DNA damage ($p < 0.01$) after a CF training session. When analyzing these markers after the treadmill running protocol, an increase in antioxidant capacity ($p < 0.05$) and an increase in DNA damage ($p < 0.05$) was observed when compared to resting values. In addition, DNA damage was lower after running than after WOD ($p < 0.05$). The results of the present study are somewhat surprising since they demonstrate that a WOD session induces an increased condition of oxidative DNA damage, although it also positively affects the antioxidant capacity of CF practitioners.

Key-words: CROSSFIT, RUNNING, DNA DAMAGE, OXIDATIVE STRESS.

Lista de abreviaturas e símbolos

AMP	Monofosfato de adenosina (do inglês <i>adenosine monophosphate</i>)
ANOVA	Análise de variância
ATP	Trifosfato de adenosina (do inglês <i>adenosine triphosphate</i>)
CAT	Catalase
CFE	Condicionamento físico exigente
CF	CrossFit
CK	Creatina quinase
DEXA	Absorciometria radiológica de duplo feixe
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico)
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético (do inglês <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
EF	Exercício físico
ERN	Espécies reativas de nitrogénio
ERO	Espécies reativas de oxigénio
ERS	Espécies reativas sulfúricas
IMC	Índice de massa corpórea
FADEUP	Faculdade de Desporto da Universidade do Porto
FC	Frequência cardíaca
FC _{máx}	Frequência cardíaca máxima
FRAP	Poder antioxidante de redução férrica (do inglês <i>ferric reducing ability of plasma</i>)
GPx	Glutathione peroxidase
HIIT	Treino intervalado de alta intensidade (do inglês <i>high-intensity interval training</i>)
LaMetEx	Laboratório de Metabolismo e Exercício
MDA	Malondialdeído
NAD	Dinucleótido de nicotinamida e adenina (do inglês <i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>)

NADH	Dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (do inglês <i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>)
OH [•]	Radical hidroxilo
PAR-Q	Questionário de prontidão para a atividade física
RL	Radicais livres
RM	Repetição máxima
-SH	Grupo tiol
SO	Stress oxidativo
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNB	Ácido 5-tio-2-nitrobenzóico
WOD	Treino do dia (do inglês <i>workout of the day</i>)
XO	Xantina oxidase
XD	Xantina desidrogenase
VO ₂	Consumo de oxigênio
VO ₂ máx	Consumo máximo de oxigênio

1. Introdução

Os programas de condicionamento físico exigentes (CFE) não tradicionais têm, recentemente, recebido grande atenção do público em geral. Destes programas, o CrossFit (CF) apresenta-se em grande destaque devido ao forte apelo mediático e características que perpassam fatores competitivos e motivacionais (Souza et al., 2011). O CF é considerado um programa de CFE projetado para induzir uma série de benefícios funcionais e metabólicos podendo, eventualmente, causar riscos neuromusculares e cardio-circulatórios (Knapik et al., 2015).

O CF tem chamado atenção pelo grande aumento de praticantes desde a sua criação em 2000. Embora não existam dados científicos relativamente ao número de pessoas que praticam CF, em 2012, o programa já era utilizado em mais de 2000 instalações em todo o mundo (Longe et al., 2012). Os dados mais recentes, que constam no site oficial da modalidade (CrossFit.com), indicam que o número de atletas envolvidos ultrapassa os 500 mil indivíduos.

A metodologia de treino do CF foi originalmente criada para treinar e preparar no plano físico, sobretudo, forças de segurança e forças especiais militares, cuja atuação requer uma elevada aptidão física e força muscular. Com o intuito de melhorar a eficiência do movimento, o programa incorpora vários movimentos funcionais para promover incrementos da força muscular e capacidade cardiorrespiratória (Weisenthal et al., 2014). Embora semelhantes ao treino em circuito, os exercícios do CF não contemplam, normalmente, períodos de repouso estruturados e pré-definidos, levando a que os participantes sejam submetidos a elevados níveis de stress decorrentes do exercício físico (EF). Por estas razões, e dadas as características do programa, parece importante conhecer o seu impacto biológico nos praticantes, uma temática ainda não muito explorada na literatura. Como modalidade de intensidade exigente, espera-se que, quer do ponto de vista agudo quer crónico, promova alterações substanciais em marcadores de funcionalidade cardiovascular, respiratória e neuromuscular, modificações hormonais, inflamatórias e do estado redox, entre outras.

No entanto, são escassos os estudos centrados na resposta de parâmetros fisiológicos e bioquímicos em praticantes de CF. De acordo com a literatura, o treino de CF parece provocar alterações positivas na funcionalidade cardiovascular (Babiash et al., 2013), bem como consideráveis aumentos no desempenho aeróbio e anaeróbio (Outlaw et al., 2014). Dados recentes sugerem que uma sessão de treino funcional em circuito, composto por exercícios de elevada intensidade com o peso do próprio corpo como resistência, induz perturbações superiores em indicadores da atividade do sistema nervoso autónomo quando comparadas com as induzidas pela realização de corrida à mesma intensidade (Kluszczewicz et al., 2016), reforçando o impacto deste modelo de exercício na resposta fisiológica dos praticantes.

Dada a relevância do stress oxidativo (SO) nos mecanismos (Figura 1) de adaptação biológica, celulares e teciduais à agressão, quer induzida por condições patológicas quer fisiológicas, o efeito da variação dos indicadores associados a este fenómeno assume especial relevo na compreensão do impacto de diferentes estímulos, como por exemplo o EF, na funcionalidade sistémica, orgânica, tecidual e celular.

O impacto do EF em marcadores do SO tem sido largamente estudado desde o final dos anos 70 (Dillard et al., 1978). Posteriormente, e até os dias de hoje, numerosos autores têm estudado os efeitos do EF na alteração da relação entre a produção de espécies reativas de oxigénio (ERO), espécies reactivas de nitrogénio (ERN) e a capacidade antioxidante de neutralizar as referidas espécies oxidantes (Vollaard et al., 2005). Ao longo dos anos, têm sido utilizados vários modelos e tipos de EF com características distintas para estudar este fenómeno. Neles incluem-se modelos com humanos e animais de laboratório visando estudar o impacto, tanto do exercício agudo como crónico, nos diferentes marcadores bioquímicos diretos e indiretos de SO, bem como a possível contribuição das diferentes fontes para a ocorrência deste fenómeno. Como exemplo, Ascensão et al. (2008) analisaram o efeito de uma partida de futebol em parâmetros de SO e de dano muscular em jogadores de futebol. Os resultados demonstraram que uma partida de futebol aumenta os níveis de SO

e dano muscular ao longo das 72 horas de recuperação. Num outro trabalho dos mesmos autores, Ascensão e colaboradores (2007) avaliaram o efeito de uma corrida de motocross nos níveis plasmáticos do SO. A prova de motocross resultou num aumento do dano oxidativo, demonstrado por um aumento significativo dos níveis de glutathiona oxidada, malondialdeído (MDA) e grupos carbonilo, e associado a uma diminuição do *status* antioxidante total, bem como do conteúdo de grupos sulfidril. Na tentativa de desvendar possíveis mecanismos e fontes de produção de espécies reativas durante o exercício, Magalhães et al. (2007), num estudo realizado com praticantes de escalada *indoor*, analisaram o efeito de uma sessão de escalada até à exaustão e de corrida na passadeira realizada com a mesma duração e consumo médio de oxigénio em marcadores plasmáticos de SO, tendo verificado que a prática de escalada até à exaustão promovia um aumento no SO, o que não aconteceu após a corrida. Segundo os autores, os resultados sugerem que o incremento do SO observado após a escalada associa-se, preferencialmente, ao contributo dos processos de isquemia-reperfusão (hipóxia-reoxigenação) decorrente das contrações musculares isométricas sustentadas e intermitentes dos escaladores durante a realização do exercício de escalada.

Relativamente ao CF, apenas um estudo recente de Kliszczewicz et al. (2015) analisou a reposta redox aguda à realização de exercícios nesta atividade (20 minutos do protocolo “Cindy”), tendo como controlo a corrida realizada a uma intensidade correspondente a 90% da frequência cardíaca (FC) máxima ($FC_{m\acute{a}x}$), previamente definida como % FC obtida durante os 20 minutos do Cindy. Os resultados demonstraram que o CF desencadeou uma resposta aguda nos marcadores de SO plasmáticos comparável a uma sessão de corrida realizada em alta intensidade. Os resultados também confirmaram que a intensidade e o tempo de recuperação do exercício influenciam as respostas oxidativas.

Contudo, particularmente em exercícios contra resistência de carácter intermitente e de intensidade elevada, a relação entre a FC e o consumo de oxigênio (VO_2) não são lineares, podendo resultar em estimativas distintas da intensidade de exercício (Collins et al., 1991). Se, por um lado, a utilização do

VO₂ médio durante o WOD (*workout of the day*) como medida de controlo da intensidade de exercício pode considerar-se mais ajustada à análise da hipotética menor contribuição do *leakage* mitocondrial vs. ativação da xantina desidrogenase/oxidase (Figura 1) para as alterações redox verificadas, a FC média ou %FC_{máx} terá, eventualmente, um papel mais relevante se pretendermos especular sobre outras possíveis fontes/mecanismos contribuidores durante o exercício, como por exemplo a auto-oxidação de catecolaminas. Adicionalmente, a duração das sessões de CF, normalmente designadas de WOD é de aproximadamente 40 minutos, podendo representar um impacto distinto nos diferentes parâmetros fisiológicos, incluindo nos biomarcadores redox plasmáticos. Assim sendo, a análise do impacto deste programa WOD em marcadores de SO, assim como a especulação sobre possíveis fontes celulares preferencialmente envolvidas na produção de ERO e ERN, poderá permitir compreender melhor a resposta fisiológica adaptativa a este tipo particularmente intenso e prolongado de estímulos, uma temática ainda pouco explorada na literatura.

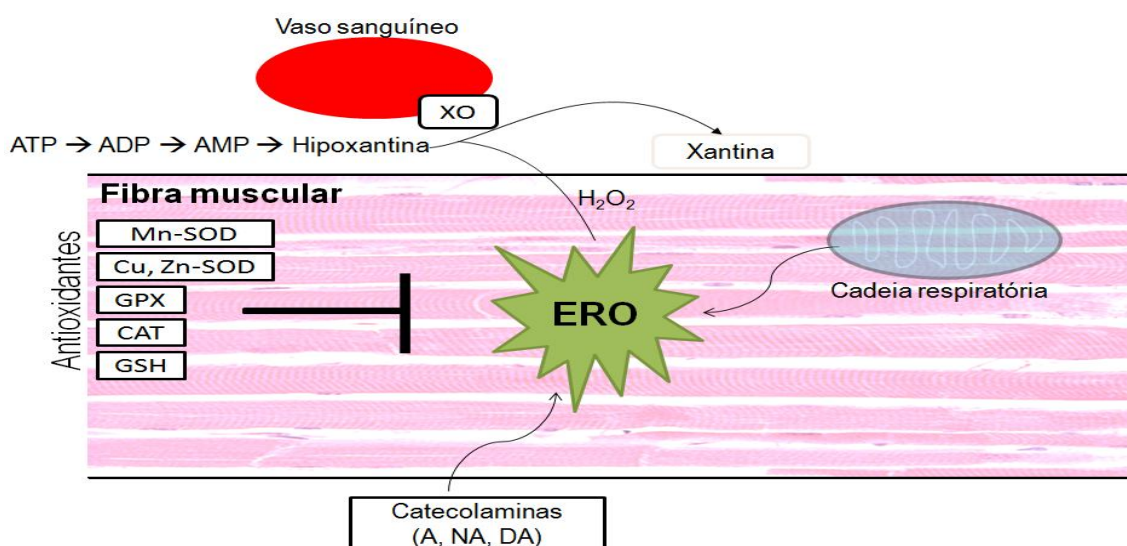


Figura 1. Mecanismo esquemático da formação de ERO durante exercício. Adaptado de (Fortuño et al., 2005). ERO: espécies reativas de oxigênio. ATP: trifosfato de adenosina. ADP: adenosina difosfato. AMP: monofosfato de adenosina. XO: xantina oxidase. SOD: superóxido dismutase. Mn: manganês. Cu: cobre. Zn: zinco. GPX: glutatona peroxidase. CAT: catalase. GSH: glutatona. A: adrenalina. NA: noradrenalina. DA: dopamina.

Revisão da literatura

2.1 CrossFit

CF é uma modalidade caracterizada por movimentos funcionais de elevada intensidade, constante e variável (Tibana et al., 2015). Para isso, as sessões de treino seguem uma ordem que se inicia com um aquecimento seguido de um exercício para desenvolver força ou melhorar a habilidade em algum movimento específico, para somente então começar a parte do designado condicionamento metabólico. Em conjunto, todos esses componentes constituem o WOD, que significa “work of the day - treino do dia” (Tabela 1). Obrigatoriamente, os treinos seguem os três pilares da prescrição, os quais consistem na realização de movimentos funcionais, de alta intensidade e constantemente variados. Este tipo de treino, por ter caráter motivacional e desafiador, tem vindo a ganhar milhares de adeptos ao longo dos últimos anos. Efetivamente, a aderência aos programas é elevada, contemplando desde indivíduos saudáveis, indivíduos com algumas enfermidades, como seja a obesidade e atletas (Heinrich et al., 2014).

Os treinos de CF possuem três modalidades: ginástica, condicionamento metabólico e levantamento de peso (Dong et al., 2015). A modalidade de ginástica, inclui exercícios cuja resistência corresponde ao peso corporal, projetados para melhorar o controle do corpo e incluem, por exemplo, agachamentos, flexões, *pull-ups*, “escalas” em cordas, anéis ou barras paralelas. Os movimentos de condicionamento metabólico oferecem pouca resistência e são projetados para gerar fadiga. Os exercícios podem ser predominantemente aeróbios ou anaeróbios e as sessões são frequentemente combinadas com exercícios de alta intensidade, que são realizados com repetição rápida e sucessiva, com tempo de recuperação limitado ou zero. A modalidade levantamento de peso compreende carga externa, incluindo levantamentos funcionais, como *squat* ou *deadlift*, levantamentos olímpicos, ou outros levantamentos usando *kettlebells*, sacos de areia e medalhas (Smith et al., 2013). O objetivo de alguns desses exercícios é conseguir o melhor tempo

possível enquanto para outros, o objetivo é o maior número de rodadas em períodos de 10 a 30 minutos.

O treino do CF visa desenvolver ao máximo as diferentes vias metabólicas e diversas valências físicas, como sejam aptidão cardio-respiratória, força máxima, potência muscular, velocidade, coordenação, flexibilidade, agilidade, equilíbrio e precisão. Embora semelhante ao treino em circuito, os exercícios do CF não contemplam, normalmente, períodos de descanso estruturados, permitindo que os participantes sejam confrontados com níveis elevados de stress provocado pelo exercício (Glassman et al., 2003). Segundo o seu “criador”, o treinador Glassman, o CF é supostamente mais exigente e eclético, comparativamente com outras modalidades, pelo facto de se treinar diversas capacidades físicas de maneira concomitante (Glassman, 2002).

Tabela 1. Exemplo de WOD

	Intensidade	Séries	Repetições
1. MOBILIDADE			
Região superior do corpo	-	-	20
2. LEVANTAMENTO OLÍMPICO			
Técnica de arranco	Barra ou bastão	5	3
Arranco	75% de 1 RM	5	3
3. EXERCÍCIOS BÁSICOS			
Agachamento posterior	75% de 1 RM	5	5
4. GINÁSTICA			
<i>Muscle up</i>	-	5	7
5. CONDICIONAMENTO METABÓLICO			
<i>Fran</i>	<i>Thruster</i> – 40 kg (menor tempo possível)	-	-

1 RM: 1 repetição máxima; *Fran*: é um dos exercícios de referência do CrossFit, sendo o *benchmark* mais comumente usado para testar o progresso na modalidade; *Thruster*: exercício combinado de agachamento frontal + desenvolvimento frontal; WOD: *workout of the day*.

Estudos anteriores que investigaram as respostas agudas e crônicas induzidas pelo CF demonstraram que o mesmo pode alterar, de maneira positiva e significativa, a aptidão cardiovascular, a composição corporal (Smith e colaboradores, 2013) e a resistência muscular (Eather et al., 2016). Smith e colaboradores (2013) utilizaram as rotinas de treino do CF e verificaram que, após dez semanas de treino em jovens adultos, verificou-se uma redução até 20% no percentual de gordura e melhorias até 15% no VO_2 máximo ($\text{VO}_{2\text{máx}}$). De forma análoga, Murawska-Cialowicz et al. (2015) observaram que três meses de treino com a metodologia do CF, realizados duas vezes por semana com 60 minutos de duração, em 12 homens e 5 mulheres fisicamente ativos e aparentemente saudáveis, foram capazes de melhorar o $\text{VO}_{2\text{máx}}$, reduzir o percentual de gordura e aumentar a massa muscular dos praticantes.

Do ponto de vista agudo, e como referido anteriormente, Kliszcewicz et al. (2015) compararam a resposta da FC e resposta da secreção de hormonas de stress, nomeadamente epinefrina e norepinefrina a duas condições de exercício: i) protocolo Cindy do CF e ii) protocolo na passadeira, durante 20 minutos, com intensidade a 90% da $\text{FC}_{\text{máx}}$. Os resultados evidenciaram que a FC e a percepção subjetiva de esforço durante o exercício foram maiores no protocolo de CF. Durante a fase de recuperação, o protocolo Cindy do CF resultou em alterações superiores da função autonómica quando comparado com o protocolo de corrida na passadeira, assim como na resposta da epinefrina e da norepinefrina. Alguns trabalhos têm demonstrado que sessões de condicionamento metabólico do CF podem aumentar o SO de maneira similar ao exercício de alta intensidade realizado em passadeira (Kliszcewicz et al., 2016) e exacerbar o aumento da concentração sanguínea de lactato (Perciavalle et al., 2016; Tibana et al., 2016, Szivak et al., 2013). Essas respostas exacerbadas podem levar a uma perturbação fisiológica ao longo de sessões consecutivas de exercícios de alta intensidade, o que pode contribuir para um *overreaching*, caso não seja realizado um controle adequado da aplicação das cargas de treino e recuperação. Contudo, apesar do crescimento do número de trabalhos nesta área, ainda são escassas as evidências do impacto do WOD nas diferentes respostas fisiológicas dos praticantes, em que

se incluem as associadas ao estado redox que, pela sua relevância e participação nos diferentes mecanismos de adaptação biológicas, quer na perspectiva da performance, quer na perspectiva da saúde, abordaremos de seguida.

1.1 Stress oxidativo

Em 1954, a argentina Rebeca Gerschman sugeria pela primeira vez, que os radicais livres (RL) eram agentes tóxicos e potencialmente geradores de condições patológicas ou de doenças (Gastell et al., 2000). Os RL são moléculas ou fragmentos de moléculas com um ou mais eletrões desemparelhados nas órbitas externas (Jenkins, 1988; Rimbach et al., 1999). Estas moléculas apresentam-se como instáveis e muito reactivas, pois tendem a captar eletrões de outras moléculas, oxidando-as (Prior & Cao, 1999; Sen et al., 2001). O seu tempo de semi-vida é muito limitado (de milissegundos a nano segundos) e formam-se por um processo de transferência de eletrões, o que requer um elevado input energético, sendo que quando reagem com outros radicais ou moléculas podem assim formar novos radicais (Halliwell & Gutteridge, 1999a). Uma expressão habitualmente utilizada e mais abrangente para designar estas moléculas é “espécies reativas” que incluem moléculas e compostos reativos radicais e não radicais, nas quais se encontram as que derivam de oxigénio (ERO). Porém, existem outras famílias, tais como ERN e as espécies reativas sulfúricas (ERS). Estas espécies podem formar-se a partir de reações com ERO ou podem aumentar a produção de ERO.

Pelo simples facto de consumir oxigénio, o metabolismo celular promove uma contínua formação de ERO, mesmo em situações basais, através da redução univalente da molécula de oxigénio (Beckman et al., 1998; Dröge et al., 2002; Morel et al., 1999; Mota et al., 2004;). Estas ERO podem ser produzidas em vários locais da célula, nomeadamente nas mitocôndrias, no retículo endoplasmático, nos lisossomas, nas membranas celulares, nos peroxissomas e no citosol (Ames et al., 1993; Dröge et al., 2002; Lawler et al., 1999).

As reações de oxidação e redução são fundamentais no metabolismo celular. Nesse cenário, a produção de ERO e ERN é um fenômeno necessário e natural do metabolismo, que pode produzir tanto efeito benéfico quanto nocivo às células (Halliwell e Gutteridge, 2007). Os efeitos benéficos das ERO/ERN ocorrem quando as mesmas são produzidas em baixas ou moderadas concentrações e encontram-se, normalmente, associadas à mediação e ativação de mecanismos fisiológicos de sinalização. Paradoxalmente, por exemplo na estimulação da síntese de moléculas componentes de diferentes sistemas de defesa (Thannickal e Fanburg, 2000; Sen et al., 2001; Gomes et al., 2012). Por seu lado, os efeitos nocivos são os resultados de um desequilíbrio entre a produção destas espécies e a capacidade antioxidante da célula, caracterizando um quadro de SO adicional (Halliwell e Gutteridge, 2007; Fatehi-Hassanabad et al., 2010; Pandey et al., 2010). Devido ao elevado potencial de toxicidade do oxigênio e à sua grande utilização pelos organismos aeróbios, torna-se necessário que estes estejam suficientemente munidos de uma boa capacidade antioxidante para proteger as suas células dos efeitos nocivos das ERO (Banerjee et al., 2003; Lee et al., 2004; Lambertucci et al., 2007).

Os níveis de SO podem ser determinados e/ou estimados através da avaliação direta da produção de RL, da determinação dos produtos da lesão oxidativa de proteínas, lípidos e ácido desoxirribonucleico (DNA), bem como da atividade de enzimas antioxidantes ou da concentração de compostos com estas características.

As proteínas são alvos imediatos para a modificação oxidativa ocasionada por ERO, alterando sua estrutura e provocando perda de função e fragmentação das estruturas proteicas. A formação de grupos carbonilo parece ser um fenômeno comum durante a oxidação, e sua quantificação pode se usada para medir a extensão do dano oxidativo (Berlett & Stadman, 1997; Beal, 2003; Dalle-Donne et al., 2003). Os grupos carbonilo são produzidos pela oxidação da cadeia lateral de aminoácidos suscetíveis, como prolina, arginina, lisina e treonina, ou pela clivagem oxidativa das proteínas. Estes grupos também podem ser introduzidos nas proteínas por uma reação secundária das

cadeias laterais com aldeídos produzidos durante a peroxidação lipídica, como o MDA.

Uma outra forma de mensurar o impacto do SO passa pela determinação dos níveis de peroxidação dos lípidos das membranas. A peroxidação lipídica conduz à degradação dos lípidos e à formação de uma vasta gama de produtos de oxidação tais como hidroperóxidos e produtos da oxidação secundária, como o MDA (Vicenti et al., 2007). O MDA é produzido durante a auto-oxidação dos ácidos gordos. Esta substância é comumente medida pela sua reação com o ácido tiobarbitúrico, que conduz à formação de substâncias reativas a este ácido (TBARS). Apesar de determinação das TBARS não ser específica do MDA (induz sobrestimação do MDA), este método é aceite como um marcador geral da peroxidação lipídica devendo, no entanto, apresentar alguns cuidados na análise dos resultados (Groussard et al., 2003; Rimbach et al., 1999).

A creatina quinase (CK) e a mioglobina também são habitualmente utilizados como marcadores de lesão celular (Ortenblad et al., 1997; Petibois et al., 2003). Estes parâmetros podem ser considerados marcadores indiretos de SO, uma vez que a peroxidação lipídica induz danos na membrana celular (Petibois et al., 2003; Rimbach et al., 1999). Assim, estas tornam-se mais permeáveis permitindo a liberação de substâncias intracelulares (Dawson et al., 2002).

Como referido, este fenómeno de SO resulta de uma relação de (des)equilíbrio entre a produção de ERO/ERN e a capacidade dos diferentes sistemas antioxidantes em neutralizar estas espécies. De facto, os sistemas de defesa antioxidante têm a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos RL ou das espécies reativas não-radicaais. Tais ações podem ser alcançadas por meio de diferentes mecanismos de ação: impedindo a formação dos RL ou espécies não-radicaais (sistemas de prevenção), impedindo a ação desses (sistemas varredores) ou, ainda, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo) (Koury et al., 2003).

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, presente em menores concentrações que as do substrato oxidável, seja capaz de atrasar ou inibir a oxidação deste de maneira eficaz (Halliwell et al., 2004). O sistema de defesa enzimático inclui enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx). Essas enzimas agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de RL e espécies não-radicais, envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativos (Schneider et al., 2004).

As enzimas CAT e GPx agem com o propósito de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio. Tal ação integrada é de grande importância, uma vez que essa espécie reativa, não só apresenta uma semi-vida muito mais alargada que as restantes EROs como também, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss e mediante a participação dos metais ferro e cobre, culmina na geração do radical hidroxilo (OH^\bullet), um radical muito reativo e altamente nocivo para as diferentes estruturas celulares (Schneider et al., 2004). O referido radical (OH^\bullet) tem sido indicado como o de maior potencial reativo e com extrema instabilidade (semi-vida de 10^{-9} segundos). Estas características fazem com que o OH^\bullet se apresente como o radical livre mais propício na produção de danos oxidativos. Além de ser o principal iniciador do processo de peroxidação lipídica, tendo como consequência a alteração da função biológica das membranas celulares, este radical é capaz de agir sobre as proteínas, alterando-as em relação à sua estrutura e/ou função biológica. A interação do OH^\bullet com o DNA pode levar a ocorrência de mutações genéticas (Welch et al., 2002). Considerando a ação bastante nociva do OH^\bullet e o fato da não existência de defesa enzimática especializada, é de extrema importância a manutenção do equilíbrio das enzimas antioxidantes, com o propósito de promover a manutenção da integridade celular. Assim, a GPx merece atenção especial, uma vez que sua ação depende da manutenção do ciclo redox da glutathione, por meio do controle da relação entre glutathione reduzida e oxidada (Schneider et al., 2004; Rover et al., 2001).

Os sistemas de defesa não-enzimáticos incluem, especialmente, os compostos antioxidantes de origem dietética, entre os quais se destacam: vitaminas, minerais e compostos fenólicos. O ácido ascórbico (vitamina C), o α -tocoferol e β -caroteno, precursores das vitaminas E e A, respetivamente, são compostos vitamínicos potencialmente antioxidantes. Outros carotenoides sem atividade de vitamina A, como licopeno, luteína e zeaxantina, também o são. Entre os minerais destacam-se o zinco, cobre, selênio e magnésio, importantes co-fatores de algumas enzimas antioxidantes.

Como referido anteriormente, a realização de EF, em geral, promove condições favoráveis à formação adicional de EROs. Estudos indicam que se verifica um aumento do SO após exercício submáximo ou maximal, como por exemplo, corrida intermitente, *sprints*, saltos ou séries de saltos, exercícios de força (excêntrico ou concêntrico) ou após o teste de *Wingate* em cicloergómetro (Groussard et al., 2003; McBride et al., 1998). O tipo de EF realizado pode conduzir à referida condição de SO adicional com a participação de fontes produtoras distintas de EROs. Ou seja, em função do tipo de exercício realizado, a ativação das diferentes fontes/mecanismos de produção de EROs manifesta-se preponderante de umas relativamente a outras. As mitocôndrias e a enzima xantina oxidase (XO) parecem ser as principais fontes produtoras destas espécies no músculo esquelético, durante e após o EF (Gandra et al., 2006). A produção de ERO nas mitocôndrias do músculo esquelético pode não ser regulada somente pelo consumo de oxigénio ou fluxo aumentado de eletrões na cadeia transportadora de eletrões, mas também pela pressão parcial de oxigénio nas mitocôndrias e pelo gradiente de pH entre a matriz mitocondrial e o espaço intermembranas (Lamber & Brand, 2004).

Em condições de isquemia do tecido, como as que acontecem durante exercícios de alta intensidade ou exercícios realizados até a exaustão, a XO pode ter uma contribuição maior na produção de ERO, uma vez que há uma maior degradação de nucleótidos de adenina, propiciando condições que favorecem uma maior conversão da enzima xantina desidrogenase (XD) na sua forma oxidase (Hellsten, 1994; Vollaard et al., 2005; Magalhães et al., 2007). Adicionalmente, outros mecanismos podem contribuir para o aumento da

produção mitocondrial de $O_2^{\cdot -}$ durante a realização de EF, tais como o aumento da temperatura e concentração de Ca^{2+} intracelular (Supinski, 1998). Durante e após o EF, a auto-oxidação da hemoglobina e de catecolaminas, bem como os neutrófilos polimorfonucleares, são, igualmente, considerados fontes importantes de produção de EROs, contribuindo, assim, para o SO adicional verificado (Garcia et al., 2002).

1.2 Dano do DNA

O DNA é um polímero de apenas quatro subunidades encontrado nas células de todos os seres vivos e está exposto a uma infinidade de agentes genotóxicos, como as radiações, agrotóxicos, componentes químicos e os próprios produtos do metabolismo celular (Silva et al., 2003). As reações oxidativas prolongadas como a desaminação hidrolítica ou processos de alquilação podem modificar as bases do DNA ou, mesmo, por vezes, causar uma completa perda de bases na molécula, resultando na rutura de uma das cadeias (Noschanget al., 2009). Assim, danos no DNA podem ser definidos como qualquer modificação nas propriedades de codificação do DNA.

As possíveis lesões causadas, direta ou indiretamente, pelas ERO no DNA são predominantemente ruturas de fita simples e bases modificadas (Lombard et al., 2005). Embora diferentes perspetivas e mecanismos tenham sido propostos para explicar a ocorrência de mutações do DNA, é possível que o SO desempenhe um papel importante no dano do DNA, sendo que a prática de EF permite modelar os níveis de lesão de DNA (Shigenaga et al. 1994; Mergener et al., 2009). É amplamente descrito que o EF crônico reduz o stress e os danos oxidativos, tanto pela diminuição da produção de ERO, como pelo aumento da capacidade antioxidante, além de melhorar a eficiência das mitocôndrias em vários órgãos e sistemas (Ascensão et al., 2003).

Assim sendo, espera-se que o EF realizado de forma sistemática possa diminuir o dano do DNA, reduzindo o risco de desenvolvimento de mutações genéticas associadas a várias doenças. Considerando que o exercício crônico aumenta a capacidade antioxidante, parece provável uma redução do dano do

DNA resultante do aumento tanto na capacidade de reparação quanto na capacidade antioxidante (Collins e Gaivao, 2007). Embora os níveis de aptidão física já tenham sido inversamente relacionados com o dano do DNA e biogênese mitocondrial, revelando um efeito positivo na função mitocondrial (Mota et al., 2010), ainda pouco se sabe sobre os efeitos do CF nestes marcadores. O condicionamento aeróbico associa-se com a maior capacidade antioxidante e menor dano do DNA, os quais podem ser avaliados recorrendo a diversos indicadores como, por exemplo, pelo FRAP e pelo ensaio Cometa, respetivamente.

2. Objetivo

O presente estudo teve como objetivo analisar o impacto agudo de uma sessão de treino CF e comparar com um protocolo de corrida realizado com a mesma duração e média de VO_2 realizado no WOD, na expressão de marcadores plasmáticos de capacidade antioxidante e lesão oxidativa.

3. Material e métodos

3.1 Caracterização do estudo e conduta ética

Este estudo caracteriza-se como do tipo experimental e foi realizado no Laboratório de Metabolismo e Exercício (LaMetEx), da Faculdade de Desporto da Universidade do Porto (FADEUP) e na Box Barra Norte CrossFit (Porto, PT). O presente protocolo de investigação seguiu a Declaração de Helsinki da Associação Médica Mundial para pesquisa com humanos.

3.2 Critérios de inclusão e exclusão e população estudada

Foram incluídos neste estudo praticantes de CF há pelo menos 4 meses, de ambos os sexos, sem nenhum comprometimento físico (osteo-mio-articulares) e/ou audiovisuais, com resposta negativa ao Questionário de Prontidão para a Atividade Física - PAR-Q (Anexo I), não fumadores, com idades entre 21 e 40 anos e que aceitaram assinar o termo de consentimento informado, livre e esclarecido (Anexo II).

Foram excluídos desta pesquisa os sujeitos que não compareceram a qualquer uma das avaliações propostas por este estudo.

3.3 Desenho experimental

O estudo contou com três etapas (Figura 1), que serão descritas a seguir.

1° Etapa	2° Etapa		3° Etapa	
Caracterização da amostra	Sessão WOD		Sessão corrida	
	Durante o exercício	Após o exercício	Durante o exercício	Após o exercício
Amostra de sangue	VO ₂	Amostra de sangue	VO ₂	Amostra de sangue
Composição corporal	FC	Lactato	FC	Lactato
VO ₂ máx				
FC máx				

VO₂ máx: consumo máximo de oxigênio; FC máx: frequência cardíaca máxima; VO₂: consumo de oxigênio; FC: frequência cardíaca.

Figura 2. Desenho experimental do estudo. Na primeira etapa foi realizada a caracterização da amostra, sendo feitas recolhas de sangue em repouso, avaliação da composição corporal e um teste de esforço máximo. Na segunda etapa foi realizado o protocolo de CrossFit que teve a duração de 40 min, onde consumo de oxigênio e frequência cardíaca foram monitorados continuamente durante a sessão de WOD. Uma semana depois, os sujeitos realizaram um exercício de corrida em tapete rolante com a mesma duração e com uma porcentagem média de consumo de oxigênio realizado WOD. Amostras de sangue foram coletadas em repouso e imediatamente após os protocolos de exercícios para avaliar marcadores plasmáticos de capacidade antioxidante e lesão oxidativa. A concentração de lactato sanguíneo capilar foi medida imediatamente e 3, 5 e 7 minutos após os protocolos de exercício. O valor máximo obtido foi considerado.

3.3.1 Etapa 1 – Caracterização da amostra

Os praticantes responderam a um conjunto de questões com o intuito de unir informações relacionadas com a caracterização geral da amostra (nome, idade e sexo), além da confirmação de ausência dos fatores de risco cardiovasculares, obtido pelo preenchimento negativo do PAR-Q.

Após anamnese, os voluntários foram encaminhados à realização das medidas antropométricas, da colheita de sangue para as análises bioquímicas, do exame de absorciometria radiológica de duplo feixe (DEXA) e de um teste incremental máximo em tapete rolante.

As amostras sanguíneas foram obtidas da veia antecubital seguindo os protocolos clínicos convencionais, utilizando ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante. De acordo com (Bailey, 2001), não foi efetuado qualquer tipo de constrição através do uso de um torniquete com o objetivo de minimizar o possível stress e lesão oxidativos induzido pela manobra de isquemia-reperfusão. A primeira colheita foi efetuada nos instantes precedentes ao início do programa de seleção. As restantes foram realizadas imediatamente após os protocolos descritos abaixo.

As amostras recolhidas foram imediatamente centrifugadas à temperatura ambiente a 2000 rpm por um período de 10 minutos e o plasma foi separado em diversas alíquotas, as quais foram rapidamente congeladas a - 80°C.

Utilizou-se uma balança digital com estadiómetro incorporado (modelo 220, seca, al) para avaliar peso e estatura. O IMC foi calculado pela massa corporal (kg) dividido pela altura em metros ao quadrado (kg/m^2).

A avaliação do percentual de gordura total, massa magra e massa gorda, foram mensurados por meio da técnica de DEXA. Foi realizado um scaneamento do corpo inteiro, examinado no aparelho *Hologic* modelo *Discovery WI*, com emissão de radiação em 5 microsievert (μSv). Para o controle das medidas, o aparelho foi calibrado previamente à utilização, conforme especificações do fabricante.

Os praticantes foram aconselhados a manter o padrão alimentar e horário do sono, do comparecimento ao estudo vestidos de maneira adequada para avaliação e sem portarem objetos metálicos para não causar interferência nos resultados da DEXA, abstendo-se de atividades físicas exaustivas nas 48 horas precedentes as avaliações

Os voluntários foram submetidos a um teste máximo incremental no tapete rolante. O protocolo consistiu de um aquecimento com duração de dois minutos, com uma velocidade fixa de 7,9 km/h, em seguida a cada patamar (1 minuto), adicionava-se de maneira contínua 0,7 km/h até o esforço máximo ou aparecimento de sintomas de exaustão. Durante o teste, a FC foi registada continuamente através de um cardiófrequencímetro (Polar - Modelo FT-1,

Finlândia). O VO_2 foi mensurado pelo analisador de gases K4b2 (Cosmed®, Roma, Itália).

Após a primeira etapa de avaliações, realizadas no LaMetEx, foram então feitas marcações de datas para as avaliações da segunda etapa, na box de CF, de acordo a disponibilidades de cada voluntário.

3.3.2 Etapa 2 – Protocolo CrossFit

A segunda etapa experimental deste estudo foi composta pela realização da sessão de CF – WOD. Este consistiu na realização de um aquecimento com duração de cinco minutos de mobilidade articular e exercícios de alongamento dinâmico. Durante o WOD, os atletas foram instruídos a dar o máximo em todos os exercícios de modo a atingirem a condição de exaustão. Como já foi anteriormente referido, durante todo o protocolo CF, foi monitorizada de forma contínua a FC e avaliado o VO_2 através de um analisador de gases portátil. O protocolo foi planeado e estruturado por um treinador da Box junto com a equipa de investigadores que colaborou neste trabalho. O WOD teve duração de 40 minutos, dividido em blocos, incluindo o tempo de recuperação, como descrito a seguir:

1º O primeiro exercício foi realizado no remo ergómetro (Figura 2). A roda do remo ergómetro deveria estar totalmente parada a fim de se evitar a saída lançada. O sujeito ficou posicionado com os braços estendidos e o tronco ligeiramente inclinado à frente, joelhos em um ângulo de aproximadamente 90° ; utilizou-se a voz de comando: “Atenção – vai”, para dar início. Durante quatro minutos o sujeito foi orientado a dar seu máximo. Após o fim do tempo estabelecido, o mesmo teve quatro minutos de repouso.



Figura 3. Exercício remo no ergômetro

2° Para o segundo exercício do WOD, foi realizado um exercício de quatro minutos em um ciclo ergômetro da *Air bike* (Figura 3).



Figura 4. Exercício no ciclo ergômetro

3° Após oito minutos de recuperação, o sujeito realizou o exercício “*Randy*” (Figura 4) tendo um tempo de seis minutos para tentar ou conseguir 75 repetições com uma carga de 35/25 kg para homens e mulheres, respectivamente (incluindo o peso da barra). Na posição inicial, o indivíduo deveria estar com os joelhos semiflexionados e com o tronco levemente curvado para frente. Após o investigador dar o comando de voz para iniciar o exercício e, em um único movimento, o mesmo tinha que tirar a barra do chão e leva-la acima da cabeça, para que o investigador contasse uma repetição.



Figura 5. Exercício “Randy”

4° No quarto e último bloco do WOD, após ter um tempo de recuperação de oito minutos, cada sujeito teve que realizar quatro tipos de exercícios, de forma contínua, com cargas e repetições fixas para todos durante seis minutos. O número de repetições de cada exercício teve que ser completado para continuar na próxima série.

i. *Deadlift*: Na posição inicial, o sujeito tinha que ficar ao centro da barra e posicionar os pés à largura da cintura e apontados para frente. Segurando a barra com os braços alinhados à largura dos ombros e com pega mista (uma mão em pronação e outra em supinação). Iniciado em posição de agachamento, com a anca e os joelhos flexionados e o tronco inclinado à frente sempre com as costas retas e não curvadas. Com a barra sempre junto aos joelhos, estende os mesmos e inclina os ombros para trás até ficar numa posição ereta (Figura 5) e um dos pesquisadores contar uma repetição. Com uma carga de 80/55 kg para homens e mulheres, respetivamente, os atletas tinham que realizar 10 repetições para ir para o próximo exercício.



Figura 6. Exercício *Deadlift*

ii. *Toes to bar*: Suspenso na barra tendo o corpo todo alongado (Figura 6), o sujeito teve que tocar as pontas dos pés na barra em que o mesmo se encontrava suspenso.

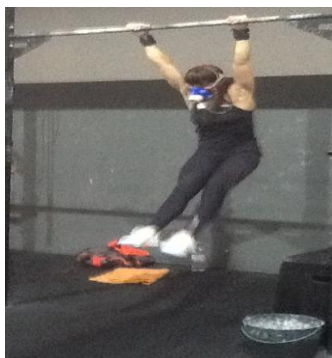


Figura 7. Exercício Toes to bar

iii. *Dumbbell thruster*: O sujeito realizou um movimento de agachamento frontal com desenvolvimento frontal com halteres. Tendo que realizar 10 repetições com uma carga de 30/20 Kg para homens e mulheres, respetivamente.



Figura 8. Exercício *Dumbbell thruster*

iiii. *Dumbbell walking lunges*: Para início do exercício, o sujeito manteve uma perna posicionada para frente com o joelho flexionado e o pé em contacto com solo, enquanto a outra perna permanecia posicionada para trás (Figura 8). Com as pernas em movimento, a cada passada tocando com o joelho no chão. O mesmo teve que se deslocar numa distância de 10 metros (ir e vir) com uma

carga de 30/20 Kg para homens e mulheres, respetivamente. Ao fim deste exercício foi contado uma volta deste bloco concretizado.



Figura 9. Exercício *Dumbbell walking lunges*

A concentração máxima de lactato foi medida a partir do sangue capilar colhido do lóbulo da orelha e as amostras de sangue venoso foram coletadas de veias antecubitais, ambas imediatamente após o protocolo.

3.3.3 Etapa 3 – Protocolo passeadeira

Uma semana após a etapa 2, isto é, o protocolo do CF, os indivíduos compareceram no LaMetEx para realizar um segundo teste no tapete rolante. Neste protocolo, os praticantes foram instruídos a correr o mesmo tempo do protocolo do CF, ou seja, 40 minutos, a uma velocidade equivalente ao VO_2 médio obtido durante o WOD.

3.4 Marcadores de capacidade antioxidante e lesão oxidativa

FRAP - Poder antioxidante de redução férrica

O ensaio FRAP (do inglês *Ferric Reducing Ability of Plasma*) é um método utilizado para avaliação da capacidade antioxidante (BioQuoChem, KF-01-003). É utilizado ião ferro com baixo pH o que causa a formação de um complexo de cor ferrosa. Resumidamente, 10 μ L de amostra foram misturados com solução FRAP e continuamente agitada durante 4 minutos. A absorbância

foi lida a 593 nm e os valores de FRAP das amostras foram obtidos usando a equação da regressão linear da curva padrão.

Tióis totais

A oxidação dos tióis (-SH) livres da amostra leva à formação de pontes dissulfeto. O ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico) (DTNB), reagente de cor, é reduzido pelos tióis não oxidados, gerando um derivado amarelo, o ácido 5-tio-2-nitrobenzóico (TNB), lido espectrofotometricamente a 412 nm ($\epsilon = 13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) (Aksenov e Markesbery, 2001). Os resultados foram expressos em nmol de TNB/ mg proteína.

Ensaio Cometa na versão alcalina

O ensaio Cometa na versão alcalina foi realizado como descrito previamente por Singh e colaboradores (1988) com algumas modificações (Al-Salmani et al., 2011; Costa et al., 2008). Resumidamente, utilizam-se núcleos embebidos numa camada fina de agarose, que são distribuídos em 12 minigéis por lâmina. Todas as proteínas celulares são removidas por lise celular. O DNA sofre desnaturação em condições alcalinas e logo após, é aplicado um campo elétrico (eletroforese) para permitir que os fragmentos de DNA migrem a partir do núcleo. Na sua versão alcalina, o ensaio detecta quebras simples e duplas, locais de reparação incompleta e sítios alcali-lábeis (McKelvey-Martin et al., 1993).

Antes do ensaio, as amostras de sangue total foram rapidamente descongeladas em gelo (4°C). Os minigéis foram feitos a partir de uma mistura de 5 µL de sangue com 300 µL de agarose *low melting point* a 0,6%. Colocou-se então 30 µL de tal mistura (células/agarose) em lâmina de microscópio pré-revestida com agarose *normal melting point* a 1%. As amostras foram analisadas em duplicado, ou seja, foram feitos dois minigéis por indivíduo. Imediatamente após o preparo das lâminas, as mesmas foram colocadas entre 0-4°C aproximadamente 5 min para solidificação dos minigéis. Após este curto intervalo de tempo, as lâminas foram imersas em solução de lise gelada,

preparada alguns minutos antes do uso (NaCl 2,5 M, Na₂EDTA 100 mM, Tris-base 410 mM, NaOH 0,25 M, pH 10, 1% Triton X-100), e permaneceram durante pelo menos 1 h a 4°C no escuro. Após este período, as lâminas foram submersas em solução de eletroforese (Na₂EDTA 1 mM, NaOH 300 mM) durante 20 min a 4°C, para permitir o desenovelamento do DNA.

A eletroforese foi realizada durante 20 min a 1,2V/cm. Para a neutralização, as lâminas foram lavadas durante 10 min em PBS e lavadas durante mais 10 min em água desionizada (4°C). As lâminas foram então fixadas em etanol a 70% durante 15 min e em etanol absoluto durante mais 15 min. As lâminas secas foram coradas com SYBER® Gold (Invitrogen, EUA) na diluição recomendada pelo fabricante, durante 20 min em banho com agitação, enxaguadas duas vezes com água e deixadas secar a temperatura ambiente. Um total de 100 nucleoides por indivíduo (50 nucleoides por minigel) foram analisadas usando o sistema de análise de imagem semi-automatizado Comet Assay IV (Perceptive Instruments, UK).

As análises microscópicas foram realizadas em um microscópio de fluorescência (Eclipse E400, Nikon Instruments, Japão), com objetiva de 40X. A % de DNA na cauda do cometa (% TDNA) foi o parâmetro usado para avaliar o dano do DNA.

3.5 Procedimentos estatísticos

Inicialmente, foi realizada a análise descritiva das variáveis, de todas as etapas. Os dados para caracterização da população estudada foram expostos como média \pm erro padrão. Já os dados referentes às análises de FC, lactato, SO e dano do DNA foram expostos como média \pm desvio padrão.

Considerando o tamanho da população estudada ($n = 10$), a normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Dado o facto de que todas as variáveis possuíam distribuição normal, os dados foram então analisados através de testes paramétricos e, portanto, para comparar os dados do WOD vs corrida, foi aplicado o teste t pareado e, para comparar o basal vs

WOD vs corrida, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) de uma via de medidas repetidas, seguida dos testes dos raios múltiplos de Tukey.

Todos os testes foram realizados utilizando o programa GraphPad Prism 6. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4. Resultados

4.1 Caracterização dos sujeitos estudados

Um total de dez participantes completaram o presente estudo. Destes, seis eram homens e quatro eram mulheres. A Tabela 2 mostra as principais características dos sujeitos participantes no presente estudo.

Tabela 2. Caracterização dos sujeitos estudados.

Homens, N (%)	6 (60%)
Idade, anos	29.5 ± 5.1
Altura, cm	177.6 ± 5.1
Peso, kg	83.6 ± 3.1
Massa gorda, %	16.7 ± 1.6
VO _{2máx} , mL/kg/min	50.5 ± 3.8
FC _{máx} , bpm	190.0 ± 4.6
Pratica com CF, anos	3.8 ± 2.1
Mulheres, N (%)	4 (40%)
Idade, anos	31.1 ± 5.6
Altura, cm	160.9 ± 5.8
Peso, kg	58.5 ± 4.2
Massa gorda, %	24.5 ± 2.5
VO _{2máx} , mL/kg/min	38.9 ± 2.5
FC _{máx} , bpm	181.0 ± 5.5
Pratica com CF, anos	3.4 ± 2.6

VO_{2máx}: consumo de oxigênio; FC_{máx}: Frequência cardíaca máxima. Os dados representam a frequência (percentagem) ou a média ± erro padrão.

4.2 Parâmetros fisiológicos dos atletas do CrossFit durante e após WOD e protocolo de corrida

Na Tabela 3 são apresentadas as médias dos valores de FC média e FC_{máx}, média de VO₂ e lactato sanguíneo, tanto do WOD, quanto do protocolo de corrida realizado na passadeira. Em comparação com a corrida na passadeira, a sessão do WOD induziu um aumento significativo na FC média, FC_{máx} ($p < 0,001$) e nos níveis sanguíneos de lactato ($p < 0,001$).

Tabela 3. Frequência cardíaca média, frequência cardíaca máxima, média de consumo de oxigênio durante o WOD e corrida, e níveis sanguíneos de lactato dos atletas do CrossFit após WOD e protocolo de corrida.

	WOD	Corrida
FC (bpm)	155 ± 7	129 ± 16***
FC _{máx} (bpm)	187 ± 5	155 ± 15***
VO ₂ , mL/kg/min	24.9 ± 3.2	26.4 ± 3.2
Lactato (mM)	16.8 ± 3.4	2.0 ± 1.0***

FC: Frequência cardíaca; FC_{máx}: Frequência cardíaca máxima; VO_{2máx}: consumo de oxigênio.

Os dados representam a média ± desvio padrão (DP). *** $p < 0,001$, teste t pareado.

4.3 Capacidade antioxidante (FRAP)

Como mencionado, para avaliar a capacidade antioxidante plasmática dos participantes desta pesquisa, foi analisada a capacidade de redução férrica plasmática. Como podemos observar na Figura 9, verifica-se uma diminuição da capacidade antioxidante plasmática após a realização dos dois modos de exercício ($p < 0,01$ vs. WOD; $p < 0,05$ vs. corrida). Não se observaram diferenças significativas entre os dois tipos de exercício estudados.

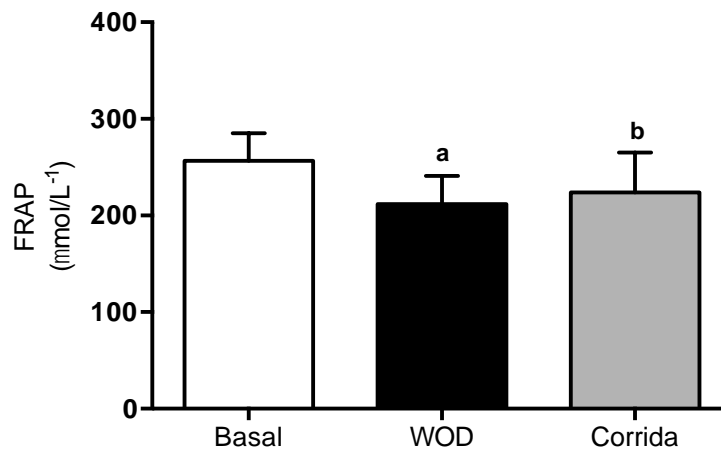


Figura 10. Capacidade antioxidante avaliada através do ensaio FRAP em atletas de CrossFit antes e após um WOD e um protocolo de corrida. Os dados representam a média \pm desvio padrão. ^a $p < 0,01$, basal vs WOD; ^b $p < 0,05$, basal vs corrida; ANOVA de uma via de medidas repetidas, teste dos raios múltiplos de Tukey.

4.4 Tióis totais

Em relação aos níveis de -SH, foi observado um aumento após o protocolo do WOD ($p < 0,05$) (Figura 10). Não foram observadas diferenças significativas entre os dois protocolos de exercícios.

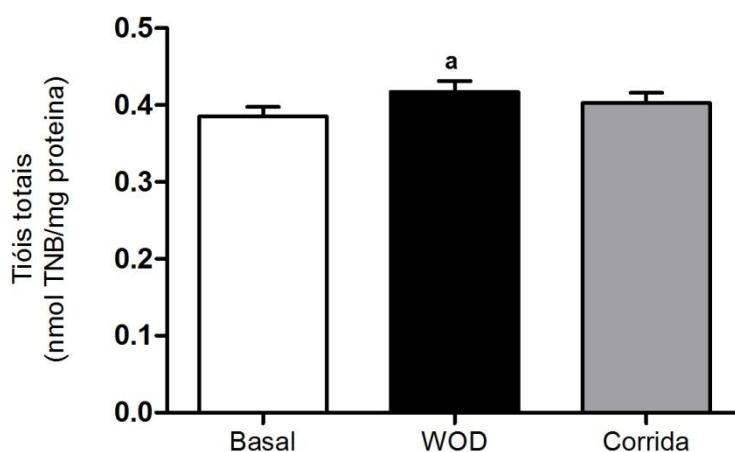


Figura 11. Representação gráfica dos níveis de tióis totais em atletas de CrossFit antes e após um WOD e um protocolo de corrida. Os dados representam a média \pm desvio padrão. ^a $p < 0,05$, basal vs WOD. ANOVA de uma via de medidas repetidas, teste dos raios múltiplos de Tukey.

4.5 Danos do DNA

Como expresso na Figura 11, os danos do DNA foram aumentados após o WOD ($p < 0,001$) e após a corrida ($p < 0,01$). Além disso, os danos induzidos pelo WOD foram significativamente superiores aos induzidos pela corrida ($p < 0,05$).

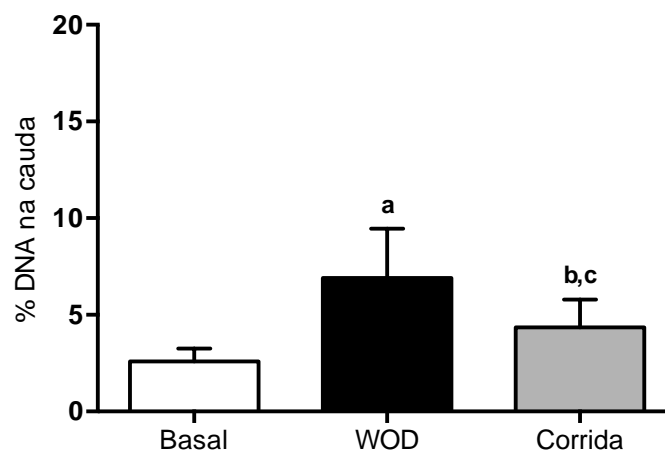


Figura 12. Danos do DNA avaliados através do ensaio Cometa em atletas de CrossFit antes e após um WOD e um protocolo de corrida. Os dados representam a média \pm desvio padrão. ^a $p < 0,001$, basal vs WOD; ^b $p < 0,01$, WOD vs corrida; ^c $p < 0,05$, basal vs corrida, ANOVA de uma via de medidas repetidas, teste dos raios múltiplos de Tukey.

5. Discussão

O interesse em exercícios de curta duração e de alta intensidade, especificamente programas de exercícios extremos como o CF, têm aumentado. Este tipo de exercício, relativamente novo, teve um aumento exponencial no número de praticantes. Grande parte desse crescimento pode ser atribuída a supostos relatos de rápida perda de peso e aumento da capacidade cardiovascular (Smith et al., 2013).

O presente trabalho teve como objetivo estudar o impacto de uma sessão de treino de 40 minutos de CF (WOD) em marcadores plasmáticos de capacidade antioxidante e lesão oxidativa. Adicionalmente, utilizando uma condição controlo para a intensidade de exercício baseada na monitorização do VO_2 (corrida em tapete rolante) e atendendo à natureza de muitas das ações/exercícios características da modalidade, procurámos isolar/analisar/excluir, ainda que de forma especulativa, possíveis contribuições de fontes/mecanismos normalmente associados à produção de ERO durante o exercício. Os resultados do nosso trabalho sugerem que a sessão WOD com as referidas características, promove uma alteração mais significativa de biomarcadores de lesão oxidativa e capacidade antioxidante no plasma e sangue dos praticantes de CF, quando comparada com uma sessão de corrida de 40 minutos realizada ao mesmo VO_2 médio que o WOD.

Sendo a mitocôndria uma das fontes preferenciais de produção de ERO durante o exercício, optámos no presente trabalho por normalizar e obter a condição controlo através da monitorização do VO_2 durante o WOD, procedendo a uma posterior realização de um período igual de corrida em tapete rolante ao mesmo VO_2 para cada sujeito. Desta forma, a quantificação da resposta redox nas duas condições, que se manifestou diferenciada (inferior na corrida comparativamente ao WOD), permitiu excluir ou considerar inferior, em termos gerais, a produção mitocondrial de ERO durante o WOD. Efetivamente, e atendendo aos valores mais elevados de FC observados no WOD vs. corrida, assim como às características de muitos movimentos típicos do CF realizados no WOD, particularmente os que implicam ações musculares

intensas e de curta duração, será de esperar uma contribuição adicional de fontes/mecanismos como a da auto-oxidação das catecolaminas bem como da ativação da xantina desidrogenase/oxidase endotelial e muscular, respetivamente, para as referidas alterações do ambiente oxidação/redução encontradas (Halliwell & Gutteridge, 2007). De facto, Kliszcewicz et al. (2015) compararam a resposta da FC e resposta da secreção de hormonas de stress epinefrina e norepinefrina em duas condições de exercício: i) protocolo Cindy do CF e ii) protocolo na passadeira, durante 20 minutos, com intensidade a 90% da $FC_{máx}$. Os resultados evidenciaram que a FC e a perceção subjetiva de esforço durante o exercício foram maiores no protocolo de CF. Na recuperação, o protocolo Cindy do CF resultou em alterações superiores da função autonómica quando comparado com o protocolo de corrida na passadeira, assim como na resposta da epinefrina e da norepinefrina.

A utilização da FC como forma de estimar os níveis de intensidade dos treinos ou dos exercícios de força ou que envolvam a participação intensa dos membros superiores têm sido alvo de controvérsia. Uma delas refere que a FC apresenta uma correlação baixa com o VO_2 em treinos com pesos (Beckham & Earnest, 2000). Em casos muito específicos de exercícios que requerem uma grande atividade dos membros superiores, verifica-se um aumento superior da FC em relação ao VO_2 . Adicionalmente, a FC, sendo um parâmetro fisiológico muito lábil, pode variar independentemente do VO_2 (estado emocional, excitação, tempo após refeição, hemoglobina total circulante, temperatura ambiente, humidade). Apesar do pressuposto de que a FC se relaciona linearmente com o VO_2 ao longo das diferentes cargas e até final do exercício, no entanto, parece que a FC atinge o seu valor máximo a um nível de carga inferior à que é necessária para atingir o $VO_{2máx}$ (Magalhães & Soares, 1999).

Nesta investigação foram utilizados dois tipos de protocolos de exercício, nomeadamente WOD e corrida realizada em tapete rolante. O objetivo deste estudo foi analisar o impacto agudo de uma sessão de treino CF e comparar com um protocolo de corrida tradicional, com a mesma duração e média de VO_2 realizado no WOD, em marcadores sanguíneos de capacidade antioxidante e lesão oxidativa. Os resultados evidenciaram uma diminuição na

capacidade plasmática antioxidante após a realização dos dois tipos de exercício. Por outro lado, não se observaram diferenças significativas entre os dois protocolos de exercício. Apesar de não existirem muitos estudos na literatura sobre os efeitos do CF na capacidade antioxidante, alguns têm demonstrado que sessões de condicionamento metabólico baseadas na realização de CF podem aumentar o SO de maneira similar ao exercício de alta intensidade realizado em passadeira (Kliszcewicz et al., 2016).

O treino de CF faz parte de um programa de condicionamento físico exigente tanto quanto o treino intervalado de alta intensidade (HIIT) (Hak et al., 2013). Bogdanis e colaboradores (2013) demonstraram que um protocolo de HIIT, realizado durante 3 semanas, resultou em redução dos marcadores de SO, e aumento acentuado do *status* antioxidante. Essas adaptações foram alcançadas após nove sessões de exercício. Os autores sugeriram que essas respostas do equilíbrio pró-oxidante e antioxidante com HIIT podem ser consideradas como uma resposta benéfica adicional para este tipo de CFE. Por esta razão, os resultados supracitados poderão, de certa forma, sugerir que o protocolo de WOD realizado pelos participantes no nosso estudo tivessem um impacto mais severo nos marcadores avaliados se se tratasse de sujeitos destreinados, uma vez que indivíduos bem treinados podem sofrer adaptações favoráveis nos mecanismos pró- e antioxidantes, em um período curto de tempo (Conti et al., 2012; Farney et al., 2012). Na verdade, Shing e colaboradores (2007) demonstraram que apenas três sessões consecutivas de treino anaeróbio provocam uma diminuição significativa dos marcadores de SO e um aumento do *status* antioxidante, sugerindo que este tipo de treino induz adaptações rápidas. Tais adaptações, quer na capacidade oxidativa do músculo, quer na defesa antioxidante, que ocorrem em curto período de tempo comparado com os programas tradicionais de treino de endurance, tornam este tipo de exercício atraente para populações (Rodriguez et al., 2012). Recorde-se que é justamente com base nas características das ERO, enquanto moléculas ou compostos importantíssimos na ativação de inúmeras vias de sinalização celular, que são justificados incrementos significativos da capacidade de defesa celular e sub-celular, incluindo a antioxidante, decorrente da realização

sistemática de exercício físico (Powers et al., 2016). Ou seja, o incremento moderado e sistemático da produção destas espécies resulta na ativação de cascatas de sinalização celular e fatores de transcrição decisivos na biossíntese de enzimas e outras moléculas com potencial antioxidante (Linnane et al. 2002; Rimbach et al., 1999).

Outro marcador importante de SO, mais especificamente da oxidação de proteínas e de compostos com grupos sulfidril, é o conteúdo de tióis totais. Neste trabalho, os níveis deste marcador aumentaram após o protocolo do WOD. Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas entre os exercícios. O objetivo desta técnica é analisar a quantidade de -SH não oxidados, que estão presentes nos aminoácidos. O grupo -SH pode ser oxidado por RL, comprometendo o funcionamento das proteínas (Kolagal et al., 2009). Uma possível explicação para os nossos resultados seria o aumento das proteínas de stress induzidas pelo exercício, uma vez que estas proteínas têm a função de controlar a homeostasia celular, protegendo contra a excessiva oxidação. No entanto, mais estudos deverão ser realizados para se conseguirem tirar conclusões mais adequadas e consistentes relativamente à influência de uma sessão de treino de CF na variação do conteúdo de tióis totais.

O SO desempenha um papel importante no dano do DNA, sendo que a prática de EF permite modelar os níveis de lesão de DNA (Shigenaga et al., 1994; Mergener et al., 2009). Os resultados deste estudo demonstraram um aumento significativo nos níveis de danos do DNA após uma sessão de WOD baseada nos exercícios de uma competição desta modalidade. Além disso, se pode observar um aumento significativo destes danos após um protocolo de corrida na passadeira. Por outro lado, quando comparado com o WOD, os danos do DNA no protocolo de corrida na passadeira foram significativamente menores.

Ainda que escassos, dados relativos ao biomonitoramento de indivíduos após HIIT demonstraram maiores danos do DNA após uma sessão deste tipo de treino (Ortiz-Franco et al., 2017), ilustrando o impacto do EF intenso. Palazzetti et al. (2003) examinaram o efeito do EF sobre a estabilidade do DNA

e demonstraram que as quebras na fita de DNA podem aumentar após o treino com sobrecarga. Além disso, uma revisão feita por Davison et al. (2016) sugeriu que exercícios agudos de alta intensidade e exercícios de resistência mais prolongados podem danificar o DNA, e isso parece ser consistente entre indivíduos treinados e não treinados, quer o exercício seja realizado em condições de normóxia ou hipóxia.

Quando se trata de protocolos de exercício máximo conduzidos em condições laboratoriais, ou seja, testes até a exaustão, os resultados são conflituosos. Alguns autores observaram níveis aumentados de quebras da fita de DNA após um protocolo de corrida exaustiva realizado em tapete rolante, em indivíduos com diferentes níveis de treino (Hartmann et al., 1994; Niess et al., 1996). Por outro lado, Moller et al. (2001) observaram quebras na fita de DNA e danos oxidativos ao DNA após um teste máximo de ciclo ergómetro sob condições de hipóxia, mas não em condições normóxicas.

Tomados em conjunto, os nossos resultados evidenciam alterações no estado redox celular. Como mencionado anteriormente, a formação de ERO durante o EF ocorre a partir de diversos mecanismos fisiológicos, por exemplo, utilização do oxigénio a nível celular, fenómenos que impliquem a ocorrência de isquemia-reperfusão, inflamação do tecido muscular e oxidação de catecolaminas (Ji & Leichtweis, 1997; König & Berg, 2002). Esses processos podem ocasionar produção exacerbada de ERO e, em casos mais avançados, prejudicar a performance desportiva.

Em situações normais, a fosforilação oxidativa resulta na produção de ATP na mitocôndria. Na cadeia respiratória, 95-99% do oxigénio consumido é reduzido em água (Finaud et al., 2006). Entretanto, 1-5% do oxigénio do fluxo da cadeia transportadora de eletrões escapam diretamente dos complexos I e III para o oxigénio, reduzindo-o univalentemente e formando superóxido (Finaud et al., 2006). No complexo I, a principal rota de fuga para o oxigénio é reagir com o ferro e o enxofre encontrados no local e no complexo III. O produto formado pelas duas reações é o superóxido, sendo que o complexo III o libera por ambos os lados do interior da membrana mitocondrial. Durante o exercício, a geração de ERO que ocorre durante a atividade contrátil está

diretamente relacionada com o elevado consumo de oxigénio que ocorre com o aumento da atividade mitocondrial (Powers & Jackson, 2007).

Por outro lado, quando se trata da produção de ERO por isquemia-reperfusão, sabe-se que interrupções temporárias das bombas de ATP dependentes de Ca^{2+} levam ao aumento das concentrações intracelulares de Ca^{2+} , o que durante o exercício pode ativar a via da XO. Durante um exercício de alta intensidade poderá ocorrer um aumento nas concentrações intramusculares de Ca^{2+} , que causa ativação de proteases dependentes de Ca^{2+} e depois conversão da xantina desidrogenase (XD) para a xantina oxidase (XO). A XD usa o oxigénio molecular ao invés do dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (NADH) como recetor de eletrões, que culmina na formação do radical superóxido (Halliwell & Gutteridge, 2007). Em exercícios intensos de curta duração, durante os quais são executados movimentos cíclicos de contração e relaxamento, a produção de ERO pode ser aumentada devido à hipóxia e reoxigenação temporária. Durante a contração, a compressão vascular estabelece um quadro de isquemia, gerando uma hipoxia. Entretanto no relaxamento, acontece a reperfusão, e, conseqüentemente, a reoxigenação (Halliwell & Gutteridge, 2007). Sob condições aeróbicas, o oxigénio assegura que o ATP seja repostado primeiramente via fosforilação oxidativa mitocondrial, e que hipoxantina/xantina sejam convertidas para ácido úrico pela XD ao invés da XO. Além disso, o músculo esquelético tem baixa atividade da XO. Todavia, a XO pode ser um importante caminho quando o músculo apresentar um deficit de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD). Essa situação teoricamente pode acontecer, por exemplo, em situação isquémica, exercício isométrico, *sprint* e deficit de oxigénio (Bejma & Ji, 1999, Chevion et al., 2003). De acordo com Chevion et al. (2003), as reações catalisadas pela XO têm sido consideradas uma das mais importantes fontes de RL na isquemia/reperfusão do coração. Durante a isquemia, o trifosfato de adenosina (ATP) é degradado até formar monofosfato de adenosina (AMP) devido à demanda de energia do miocárdio. Se o oxigénio for insuficiente, o AMP é continuamente degradado para hipoxantina que pode ser convertido para xantina e ácido úrico pela XO e formando superóxido.

Considerando os valores de lactato, $VO_{2\text{máx}}$ e $FC_{\text{máx}}$ dos sujeitos deste estudo, é plausível especular que os danos do DNA e a diminuição do *status* antioxidante observados após o WOD poderiam ser consequências de uma exacerbação na produção de ERO com origem principalmente a partir do mecanismo de isquemia-reperfusão e oxidação de catecolaminas. Por outro lado, estas variações nestes mesmos parâmetros após a corrida poderiam estar mais associadas à utilização do oxigénio celular a nível mitocondrial, uma vez que a FC e o lactato foram inferiores na corrida vs. WOD e o VO_2 foi semelhante nas duas condições estudadas.

6. Conclusões

Os resultados do presente estudo demonstram que uma sessão de WOD induz uma condição acrescida de lesão oxidativa e afeta a capacidade antioxidante dos praticantes de CF.

Podemos sugerir que, de acordo com os nossos resultados, as fontes preferenciais de produção de ERO durante um WOD de CF não parecem incluir a mitocôndria e o metabolismo oxidativo de forma decisiva como contribuidores relevantes para as alterações redox encontradas. Em contrapartida, a produção de ERO com potencial origem a partir dos mecanismos de isquemia-reperfusão e de oxidação de catecolaminas parece justificar os resultados obtidos neste trabalho.

Referências bibliográficas

- Aksenov, M. Y., & Markesbery, W. R. (2001). Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 20 (30):2-3.
- Al-Salmani, K., Abbas, H. H., Schulpen, S., Karbaschi, M., Abdalla, I., Bowman, K. J., So, K. K., Evans, M. D., Jones, G. D., Godschalk, R. W., & Cooke, M. S. (2011). Simplified method for the collection, storage, and comet assay analysis of DNA damage in whole blood. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(3):719-725.
- Ames, B., Shigenaga, M., & Hagen, T. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(17): 7915-7922.
- Ascensao, A., Magalhães, J., Soares, J., Oliveira, J., & Duarte, J. A. (2003). Exercise and cardiac oxidative stress. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 22(5): 651-678.
- Ascensao, A., Ferreira, R., Marques, F., Oliveira, E., Azevedo, V., & Magalhães, J. (2007). Effect of off-road competitive motocross race on plasma oxidative stress and damage markers. *British Journal of Sports Medicine*, 41(2): 101-105.
- Ascensao, A., Rebelo, A., Oliveira, E., Marques, F., Pereira, L., & Magalhães, J. (2008). Biochemical impact of a soccer match - analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. *Clinical Biochemistry*, 41(10): 841-851.

- Babiash, P. E. (2013). *Determining The Energy Expenditure and Relative Intensity of Two CrossFit Workouts* [master's thesis]. La Crosse: University of Wisconsin – La Crosse.
- Bailey, D. M. (2001). What regulates exercise-induced reactive oxidant generation: mitochondrial O_2 flux or PO_2 ?. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(4): 681-682.
- Banerjee, A., Mandal, A., Chandra, D., & Chakraborti, C. (2003). Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 253(2): 307-312.
- Beal, M. F. (2003). Mitochondria, oxidative damage, and inflammation in Parkinson's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 991(5): 120-131.
- Beckman, K. & Ames, B. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*, 78(2): 547-581.
- Beckham, S. G., & Earnest, C. P. (2000). Metabolic cost of free weight circuit training. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 40(3):118-125.
- Bejma, J., & Ji, LL. (1999). Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 87(1):465-70.
- Bogdanis, G. C., Stavrinou, P., Fatouros, I.G., Philippou, A., Chatzinikolaou, A., Draganidis, D., Ermidis, G., & Maridaki, M. (2013). Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food and Chemical Toxicology*, 61(3):171-177.

- Berlett, B. S. & Stadtman, E. R. (1997). Oxidação de proteínas no envelhecimento, doenças e estresse oxidativo. *Journal of Biological Chemistry*, 372(5): 20313-20316.
- Collins, M. A., Cureton, K. J., Hill, D. W., & Ray, C. A. (1991). Relationship of heart rate to oxygen uptake during weight lifting exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 23(5):636-40.
- Collins, A. R. & Gaivao, I. (2007). DNA base excision repair as a biomarker in molecular epidemiology studies. *Molecular Aspects of Medicine*, 28 (4):307-322.
- Chevion, S., Moran, D. S., Heled, Y., Shani, Y., Regev, G., Abbou, B., Berenshtein, E., Stadtman, E. R., & Epstein, Y. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *National Academy of Sciences of the United States*, 29(9): 5119-5123.
- Conti, V., Corbi, G., Russomanno, G., Simeon, V., Ferrara, N., Grasso, C., Stiuso, P., Dicitore, A., & Filippelli, A. (2012). Oxidative Stress Effects on Endothelial Cells Treated with Different Athletes' Sera. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 44(1): 39-49.
- Costa, S., Coelho, P., Costa, C., Silva, S., Mayan, O., Santos, L. S., Gaspar, J., & Teixeira, J. P. (2008). Genotoxic damage in pathology anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde. *Toxicology*, 252(3): 40-8.
- Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., & Milzani, A. (2003). Protein carbonylation in human diseases. *Trends in Molecular Medicine*, 9(2): 169-176.

- Davison, G. W. (2016) Exercise and Oxidative Damage in Nucleoid DNA Quantified Using Single Cell Gel Electrophoresis: Present and Future Application. *Frontiers in Physiology*, 7(1) :249.
- Dawson, B., Henry, G. J., Goodman, C., Gillam, I., Beilby, J. R., Ching, S., et al. (2002). Effect of Vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a 21 km run. *Sports Medicine*, 23(1): 10-15.
- Dillard, C. J., Litov, R. E., Savin, W. M., Dumelin, E. E., & Tappel, A. L. (1978). Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *Journal of Applied Physiology*, 45(6): 927-932.
- Dong-Hun, Y. (2015). The effects of CrossFit-based Training and Weight Training on Health-related Physical Fitness, Functional Fitness and Blood lipids in Middle Aged Men. *Exercise Science*, 24(2): 109-116.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1): 47-95.
- Eather, N., Morgan, P. J., & Lubans, D. R. (2013). Improving health-related fitness in adolescents: the crossfit teens randomized controlled trial. *Journal of sports science*, 34(3): 209-223.
- Farney, T. M., McCarthy, C. G., Canale, R. E., Schilling, B. K., Whitehead, P. N., & Bloomer, R. J. (2012). Absence of blood oxidative stress in trained men after strenuous exercise. *Medicine & science in sports & exercise*, 44(10): 1855-1863.
- Fatehi, H. Z., Chan, C. B., & Furman, B. L. (2010). Reactive oxygen species and endothelial function in diabetes. *European Journal of Pharmacology*, 636(3): 8-17.

- Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise end training. *Sports Medicine*, 21(1): 327-358.
- Fortuño, A., San, J. G., Moreno, M. U., Díez, J., & Zalba, G. (2005). Oxidative stress and vascular remodelling. *Experimental Physiology*, 90(4):457-462.
- Garcia, J. A. V., & Dooud, R. (2002). Efeitos dos antioxidantes fenólicos na pratica desportiva, *Fitness & Performance Journal*, 1(4): 21-27.
- Gastell, P. & Alejo, J. (2000). Métodos para medir el daño oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 29(3): 192-198.
- Glassman, G. (2003). Metabolic Conditioning. *CrossFit Journal*, 1-2.
- Glassman G. (2002). What is fitness. *CrossFit Journal*, 1-11.
- Gomes, E. C., Silva, A. N, Oliveira, M. R. (2012). Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(1): 130 -132.
- Groussard, C., Machefer, G., Rannou, F., Faure, H., Zouhal, H., & Sergent, O. (2003). Physical fitness and plasma non-enzymatic antioxidant status at rest and after a wingate test. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 28(1): 79-92.
- Hak, P. T., Hodzovic, E., & Hickey, B. (2013). The nature and prevalence of injury during CrossFit training. *Journal of Strength & Conditioning Research*, 33(2):1064-1068.

- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press, 22(2): 9-11.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2007). Free radicals in biology and medicine. 4.edição. Oxford, uk: clarendon press.
- Halliwell, B., Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142(2): 231-55.
- Hartmann, A., Plappert, K., Raddatz, M., Grunert-Fuchs, G., & Speit, U. (1994) Does physical activity induce DNA damage?. *Mutagenesis*,9(1):269-272.
- Heinrich, K. M., Patel, P. M., O'Neal, J. L., & Heinrich, B. S. (2014). High-intensity compared to moderate intensity training for exercise initiation, enjoyment, adherence, and intentions: an intervention study. *BMC Public Health*, 2(14): 789.
- Hellsten, Y. (1994). Xanthine dehydrogenase and purine metabolism in man with special reference to exercise, *Acta physiologica Scandinavica*, 151 (6): 1-73.
- Ji, L. L., & Leichtweis, S. (1997). Exercise and oxidative stress sources of free radicals and their impact on antioxidant systems. *Age*, 91-106.
- Kliszcewiz, B., Quindry, C. J., Blessing, L. D., Oliver, D. G., Esco, R. M., & Taylor, J. K. (2015). Acute exercise and oxidative stress: CrossFit vs. treadmill bout. *Journal of Human Kinetics*, 47: 81-90.
- Kliszcewiz, B., Quindry, C. J., Blessing, L. D., Oliver, D. G., Esco, R. M., & Taylor, J. K. (2016). Autonomic response to an acute bout of high-

intensity body weight resistance exercise vs. treadmill running. *Journal of Strength & Conditioning Research*, 30(4):1050-8.

Knapik, J. J. (2015). Extreme Conditioning Programs: Potential Benefits and Potential Risks. *Journal of special operations medicine*, 15: 108-13.

Kolagal, V., Karanam, S. A., Dharmavarapu, P. K., D'souza, R., Upadhya, S., & Kumar, V. (2009). Determination of oxidative stress markers and their importance in early diagnosis of uremia-related complications. *Indian Journal Nephrology*, 19(1): 8-12.

Koury, J. C. & Donangelo, C. M. (2003). Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Revista de Nutrição*, 16(4); 433-41.

König, D., & Berg, A. (2002). Exercise and oxidative stress: is there a need for additional antioxidants. *Journal Sports Medicine*, 6-15.

Lambert, A. J., Brand, M. D. (2004). Superoxide production by NADH: ubiquinone oxireductase (complex I) depends on the pH gradient across the mitochondrial inner membrane. *Biochemical*, 382: 511-517.

Lambertucci, R., Leveda-Pires, A., Rossoni, L., & Pithon-Curi, T. (2007). Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, 128(3): 267-275.

Lawler, J. & Powers, S. (1999). Oxidative stress, antioxidant status, and the contracting diaphragm. *Journal of Applied Physiology*, 23(1): 23-55.

Lee, J., Koo, N., & Min, D. B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 21-33.

- Linnane, A. W., Zhang, C., Yarovaya, N., Kopsidas, G., Kovalenko, S., & Papakostopoulos, P. (2002). Human aging and global function of coenzyme Q10. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 959: 396-411.
- Lombard, D. B., Chua, K. F., Mostoslavsky, R., Franco, S., Gostissa, M., Alt, F. W. (2005). DNA repair, genome stability, and aging. *Cell*, 120(4):497–512.
- Longe, J. L. (2012). CrossFit. In J. L. Longe (Ed.), *The Gale encyclopedia of fitness*, 1: 206-209.
- Magalhães, J., & Soares, J. (1999). *Documentos de apoio à disciplina de fisiologia do exercício 1999/00*. Porto: FCDEF-UP.
- Magalhaes, J., Ferreira, R., Marques, F., Oliveira, E., Soares, J., & Ascensão, A. (2007). Indoor climbing elicits plasma oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 39(6), 955-963.
- Mergener, M., Martins, M. R., Antunes, M. V., da Silva, C. C., Lazzaretti, C., Fontanive T. O., Suyenaga, E. S., Ardenghi, P. G., Maluf, S. W., Gamaro, G. D. (2009). Oxidative stress and DNA damage in older adults that do exercises regularly. *Clinical Biochemistry*, 42:1648–1653.
- Moller, P., Loft, S., Lundby, C., & Olsen, N. V. (2001). Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative DNA damage in humans. *FASEB Journal*, 15:1181-1186.
- Mota, M. P., Figueiredo, P., & Duarte, J. A. (2004). Teorias biológicas do envelhecimento. *Revista Portuguesa de Ciências do Desporto*. 4(1): 81-110.

- Mota, M. P., Peixoto, F. M., & Soares, J. F. (2010). Influence of aerobic fitness on age-related lymphocyte DNA damage in humans: relationship with mitochondria respiratory chain and hydrogen peroxide production. *Age (Dordr)* 32(3):337-346
- Morel, Y. & Barouki, R. (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochemical Journal*, 342: 481-496.
- Murawska C. E., Wojna, J., & Zuwala-Jagiello, J. (2015). Crossfit training changes brain-derived neurotrophic factor and irisin levels at rest, after wingate and progressive tests, and improves aerobic capacity and body composition of young physically active men and women. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 6: 811-821.
- Nikolaidis, M. G., Jamurtas, A. Z., Paschalis, V., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., & Kouretas, D. (2008). The effect of muscledamaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports Medicine*, 38(7): 579–606.
- Niess, A., Hartmann, M., Grunert-Fuchs, B., Poch, G., Speit, U. (1996) DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *International Journal of Sports Medicine* , 17:397-403.
- Noschang, C. G., Pettenuzzo, L. F., Toigo, E. V. P., Andreazza, A. C., Krolow, R., Fachin, F., Ávila, M. C., Arcego, D., Crema, L. M., Diehl, L. A., Gonçalves, C. A., & Dalmaz, C. (2009) Sex-specific differences on caffeine consumption and chronic stress-induced anxiety-like behavior and DNA breaks in the hippocampus. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 94(1): 63-69.

- Outlaw, J. J., Wilborn, C. D., & Smith-Ryan, A. E. (2014). Effects of a pre-and post-workout protein-carbohydrate supplement in trained crossfit individuals. *Springerplus*. 3: 369.
- Ortenblad, N., Madsen, K., & Djurhuus, M. S. (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *American Journal of Physiology*, 272(4Pt 2), R1258-1263.
- Ortiz-Franco, M., Planells, E., Quintero, B., Acuña-Castroviejo, D., Rusanova I., Escames, G., & Molina-López, J. (2017). Effect of Melatonin Supplementation on Antioxidant Status and DNA Damage in High Intensity Trained Athletes. *Journal of Sports Medicine*, 38(14): 1117-1125.
- Palazzetti, S., Richard, M. J., Favier, A., & Margaritis, I. (2003). Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 28: 588–604.
- Perciavalle, V., Marchetta, N. S., Giustiniani, S., Borbone, C., Perciavalle, V., Petralia, M. C., Buscemi, A., & Coco, M. (2016). Attentive processes, blood lactate and CrossFit. *Physician and sportsmedicine*, 44(4):403-406.
- Petibois, C., Cazorla, G., Poortmans, J. R., & Deleris, G. (2003). Biochemical aspects of overtraining in endurance sports : the metabolism alteration process syndrome. *Sports and Medicine*, 33(2): 83-94.
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 1243–1276.

- Powers, S. K., Radak, Z., Ji, L. L. (2016). Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. *Journal of Physiology*, 5081–5092.
- Prior, R. L., & Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12), 1173-1181.
- Quindry, J. C., Stone, W. L., King, J., & Broeder, C. E. (2003). The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(7): 1139-1145.
- Rimbach, G., Hohler, D., Fischer, A., Roy, S., Virgili, F., & Pallauf, J. (1999). Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Arch Tierernahr*, 52(3): 203-222.
- Rutkowska, J., Cichon', M., Puerta, M. & Gil, D. (2005). Negative effects of elevated testosterone on female fecundity in zebra finches. *Hormones and Behavior*, 47: 585-591.
- Rodriguez, D._A., Kalko, S., Puig-Vilanova, E., Perez-Olabarría, M., Falciani, F., Gea, J., Cascante, M., Barreiro, E., & Roca, J. (2012). Muscle and blood redox status after exercise training in severe COPD patients. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(1):88-94.
- Rover, Jr. L., Hoehr, N. F., & Vellasco, A. P. (2001). Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado à métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, 24(1), 112-119.
- Schneider, C. D. & Oliveira, A. R. (2004). Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 10(10),308-313.

- Sen, C. K. (2001). Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. *Medicine Scienci Sports Exercise*, 33(3), 368-370.
- Supinski, G. (1998). Free radical induced respiratory muscle dysfunction, *Mol. Cell Biochemistry*, 179: 99-110.
- Silva, J., Erdtmann, B., & Henriques, J. A. P. (2003) *Genética Toxicológica*. Porto Alegre: *Editora alcance*. 422p.
- Singh, N. P., McCoy, M.T., Tice, R. R., Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1):184-91.
- Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., Ames, B. N. (1994). Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 8;91(23):10771-10778.
- Shing, C. M., Peake, J. M., Ahern, S. M., Strobel, N. A., Wilson, G., Jenkins, D. G., & Coombes, J. S. (2007). The effect of consecutive days of exercise on markers of oxidative stress. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32(4):677-685.
- Smith, M. M., Sommer, A. J., Starkoff, B. E., & Devor, S. T. (2013). CrossFit-Based High-Intensity Power Training improves Maximal Aerobic Fitness and Body Composition. *Journal of Strength & Conditioning Research*, 27(11): 3159-3172.
- Szivak, T. K., Hooper, D. R., Dunn-Lewis, C., Comstock, B. A., Kupchak, B. R., & Apicella, J. M. (2013). Adrenal cortical responses to high-intensity, short rest, resistance exercise in men and women. *Journal of Strength & Conditioning Research*. 27: 748–760.

- Thannickal, V.J., Fanburg, B.L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(6):1005-1028.
- Tibana, R. A., Almeida, L. M., Frade de Sousa N. M., Nascimento, C., Neto, IV., & Almeida, J. A. (2016). Consecutive Days of Crossfit Training Affects Pro and Anti-inflammatory Cytokines and Osteoprotegerin without Impairments in Muscle Power. *Frontiers in Physiology*, 7: 260.
- Tibana, R. A., Almeida, L. M., & Prestes, J. (2015). Crossfit®riscos ou benefícios? O que sabemos até o momento. *Revista Brasileira de Ciências do Movimento*. 23(1):182.
- Vincent, H. K., Innes, K. E., & Vincent, K. R. (2007). Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 9(6): 813-839.
- Vollaard, N. B., Shearman, J. P., & Cooper, C. E. (2005). Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Medicine*, 35(12): 1045-1062.
- Weisenthal, B., Beck, C. A., Maloney, M. D., DeHaven, K. E., & Giordano, B. D. (2014). Injury rate and patterns among CrossFit athletes. *The Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 2(4).
- Welch, K. D., Davis, T. Z., Eden, M. E. V., & Aust, S. D. (2002). Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(7): 577-583.

ANEXO I

Nome:	Data de nascimento: / /	Idade:
Genero:		
Telemovel:	E-mail:	
FCrep:	PA:	

Questionário de Prontidão para Atividade Física (PAR-Q)

PAR-Q	Sim	Não
1 - Seu médico já disse que você possui um problema cardíaco e recomendou Atividades físicas apenas sob supervisão médica?		
2 - Você tem dor no peito provocada por atividades físicas?		
3 - Você sentiu dor no peito no último mês?		
4 - Você já perdeu a consciência em alguma ocasião ou sofreu alguma queda em virtude de tontura?		
5 - Você tem algum problema ósseo ou articular que poderia agravar-se com a prática de atividades físicas?		
6 - Algum médico já lhe prescreveu medicamento para pressão arterial ou para o coração?		
7 -Você tem conhecimento, por informação médica ou pela própria experiência, de algum motivo que poderia impedi-lo de participar de atividades físicas sem supervisão médica?		

ANEXO II

Consentimento informado, livre e esclarecido

CrossFit vs Tapete rolante: caracterização do impacto fisiológico e análise de parâmetros bioquímicos em praticantes de *CrossFit*.

Está a ser convidado a participar num estudo científico. Antes de decidir a sua participação é importante que compreenda os motivos da sua realização e o que envolve. Por favor, leia cuidadosamente a informação que se segue, esclarecendo o seu contexto, bem como o que pode esperar caso decida participar no mesmo. Deve sentir-se inteiramente livre para colocar qualquer questão.

O que é o projeto ?

O *CrossFit* (CF) é um método de treino caracterizado pela realização de exercícios funcionais e desportivos, constantemente variados que podem ser executados em alta intensidade. Embora semelhante ao treino em circuito, os exercícios do CF normalmente não fornecem períodos de descanso estruturados, permitindo que os participantes sejam suscetíveis a níveis elevados de stress provocado pelo exercício. Projeto visa avaliar os parâmetros fisiológicos e bioquímicos em atletas de *CrossFit*®. Além da caracterização do impacto fisiológico da sua prática em atletas iniciantes e especialistas, também intenção analisar as consequências desta "modalidade de treinamento funcional" nos marcadores de danos musculares, inflamação e stress oxidativo ao longo de um ciclo desportivo completo.

Em que consiste?

O programa consiste em 3 momentos: No 1º momento será realizada uma avaliação no laboratório (Coleta de sangue, VO₂máx, Fcmáx, composição), no 2º momento será realizado uma avaliação na BOX (Vo₂, Fc, coleta de sangue e lactato) e no 3º momento os praticantes de *CF* voltam novamente para laboratório (Vo₂, Fc, coleta de sangue e lactato) , cada avaliação terá uma duração mínima de 60 minutos.

Quem pode participar?

Podem participar no projeto pessoas que praticam *CF* . Dado o limite de inscrições, será realizado um sorteio para definir os participantes e o grupo controlo, o qual terá direito a realizar todas as avaliações no início e final do programa.

O que pode determinar a exclusão do projeto?

A existência de algum problema de saúde que possa ser agravado pela participação em atividades físicas ou a falta de cumprimento dos requisitos.

Quais são os riscos envolvidos na participação?

É improvável que resulte algum dano físico ou psicológico da sua participação no estudo. Porém, se tiver alguma preocupação, agora ou durante o decorrer da intervenção, por favor contacte os investigadores.

Como descrito nos pontos anteriores, a participação no projeto envolve a componente de avaliações e de participação num programa de intervenção. No que diz respeito às sessões semanais, apesar de serem de componente prática, os exercícios serão progressivos e adaptados ao seu nível de condição física, sempre supervisionados por profissionais qualificados, pelo que os riscos envolvidos são mínimos. Antes de qualquer participação é administrado um questionário que avalia o risco face à prática de exercício, sendo excluídas todas as pessoas que apresentem risco elevado.

O que acontece à informação?

Toda a informação recolhida será conservada sigilosamente e apenas estará disponível para os investigadores envolvidos neste estudo. A informação recolhida será utilizada na produção de relatórios, publicações e apresentações dos resultados, mas a informação será guardada de forma anónima e não será identificado de forma alguma.

Quem está a implementar a investigação?

Investigadores: José Magalhães, Rui Garaganta, Jorge Beleza e Manoel Rios.

Email: jmaga@fade.up.pt/ ruigarg@fade.up.pt/ jmbeleza@fade.up.pt/
manoel.rios@hotmail.com.

Obrigado pelo seu interesse nesta investigação e por ter dispendido o tempo necessário para ler esta folha de informações.

Por favor leia estas declarações, assinalando a sua concordância com cada uma delas nas caixas respetivas. Assine no final.

1	Confirmo que li e compreendi a folha de informação fornecida para este estudo.	<input type="checkbox"/>
2	Confirmo que tive oportunidade de colocar questões acerca do estudo e recebi respostas satisfatórias.	<input type="checkbox"/>
3	Concordo em fazer parte do estudo. Decisão tomada livremente, tendo-me sido dado tempo suficiente para nela refletir.	<input type="checkbox"/>
4	Compreendo que não tenho de responder a qualquer questão que não queira e que todas as respostas serão conservadas em confidencialidade.	<input type="checkbox"/>
5	Consinto que seja recolhida, após o programa e através de entrevista, a minha opinião e experiência do programa e avaliações.	<input type="checkbox"/>
6	Compreendo que todos os meus dados serão mantidos em confidencialidade.	<input type="checkbox"/>
7	Consinto que toda a informação que forneça seja usada em relatórios, publicações ou apresentações e compreendo que a minha identidade será mantida completamente anónima.	<input type="checkbox"/>
8	Entendo que o programa de intervenção tem sessões de atividade física que serão dinamizadas e acompanhadas por um profissional. As sessões comportam exercícios testados e adequados à minha condição de saúde e aptidão física, assim que eu siga as indicações do profissional de forma a exercitar-me em segurança. Não obstante o seu grau de risco ser reduzido, estas sessões estarão cobertas por um seguro.	<input type="checkbox"/>
9	Compreendo que, para além do programa de intervenção, o programa compreende 3 períodos de avaliações.	<input type="checkbox"/>

Avaliações e Relatórios	
Concordo que o sangue recolhido possa ser utilizado não só no âmbito do programa mas em investigações futuras sobre prevenção e tratamento doenças.	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> Não
Gostaria de ser informado dos resultados gerais deste estudo.	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> Não
Dou permissão para ser contactado, no futuro, acerca de qualquer assunto relativo com o estudo ou outros projetos que dele possam derivar.	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> Não

↑Nome do Participante

↑ Assinatura

↑Data

↑Nome do Investigador

↑ Assinatura

↑Data